

[別紙 1]

## 論文内容の要旨

論文題目 脱神経後萎縮筋の MRI による評価に関する研究

指導教官 江藤 文夫 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 13 年 4 月入学

医学博士課程

外科学専攻

氏名 早乙女 貴子

[はじめに]

筋の評価はリハビリテーションを開始し、その効果を判定する上で重要な指標となる。筋力に影響を及ぼす要因として、筋の形態と機能が挙げられる。筋断面積が大きいほど発揮可能な筋力が増し、また、筋力の発揮には運動単位の活動が必要とされる。従って筋の評価には、筋の形態と機能両面の測定が重要と考えられる。日常診療の場では筋力低下の評価方法として徒手筋力テスト (manual muscle test : MMT) が最も一般的に用いられている。MMT で正確に筋力測定を行うには、決められた肢位での測定が必要とされ、被験者の理解と協力を要するため、関節拘縮や高次脳機能障害などを合併している症例では正確な測定が困難である。CT や MRI 画像を用いた筋質量や断面積、体積の測定による評価法も提案されているが、測定手法により結果に差異が認められるため課題が多い。理想的な筋の評価方法は、簡便に施行でき、測定対象者が限定されず侵襲がないこと、測定対象の筋のみの構造や性質を数値化し、定量的に表せることだが、これらを満足する筋の評価方法は現時点ではない。

Magnetic resonance imaging (MRI) は非侵襲的に生体組織の 3 次元的な観察が可能のため、極めて有用な診断手法とされる。近年、生体内の水の拡散現象を観察できる MRI を用いた拡散の研究が盛んに行われている。生体内では組織構造により水の拡散が制限されるため、水分子の拡散は方向によって異なる異方性を有する。この拡散異方性を利用した生体組織構造の解析に

MRI が応用されるようになった。また MRI 装置を用いて生体の代謝を測定する Magnetic resonance spectroscopy (MRS) で、生体組織の特性を定量的に評価することができるようになった。

本研究ではラットをモデル動物として、脱神経処置により筋の形態と特性が変化した神経原性萎縮筋と MRI を用いて、以下の 3 点について検討を行った。

- ① 骨格筋の構造変化を検出することが可能か。
- ② 拡散テンソルの各種指標の算出により、萎縮筋における拡散異方性の変化が示せるか。
- ③ 骨格筋の生化学的変化を検出することが可能か。

①では正常な筋と萎縮筋に対し MRI による拡散の検出法 (PGSE 法) を施行し、測定された信号を拡散強調 MRI の理論式に当てはめて筋線維径の推計を試みた。筋組織標本から求めた筋線維径の実測値と推計値を比較検討した。②では PGSE 法の信号測定結果を構成要素とする拡散テンソルを用いて、拡散異方性の指標 (固有値  $\lambda_1$ , 平均拡散能, fractional anisotropy) を求めた。③では  $^1\text{H}$ -MR spectroscopy で得られた水と creatine のスペクトルを解析し、単位体積 (voxel) 当りの creatine 濃度を推計した。

#### [実験方法]

9 週齢の Wistar rat (オス) の左坐骨神経を切断し、神経原性筋萎縮モデルとした。神経切断処置を施したラット (N=4~5) を処置群、処置後 2, 4, 8 週目に対応する週齢の健常ラット (N=4~5) を対照群とした。処置群は処置後 2, 4, 8 週目に MRI 撮影を行った。ラット左下腿水平断の T1 強調画像の腓腹筋上に  $2 \times 2 \times 2 \text{ mm}^3$  の voxel を設定し、そこから得られた信号測定結果を用いて①から③の実験を行った。

#### ①PGSE 法による信号減衰曲線を用いた筋線維径の推計

q gradient を 6 方向に印加した際に得られる信号測定結果を用いて、以下の実験を行った。 $q = \gamma \delta g / 2\pi$  と定義され、 $\gamma$  は  $^1\text{H}$  の磁気回転比、 $g$  および  $\delta$  はそれぞれ q gradient の強度とパルス幅である。

a. 印加軸 2 方向の信号減衰曲線を用いた筋線維径の推計 : q gradient の印加で得られた信号減衰曲線で、最も傾きの緩やか又は急な曲線が得られた印加軸方向をそれぞれ筋線維に垂直、平行と近似した。筋線維に対し平行に q gradient が印加された場合の信号測定結果から、式 (1) :  $E(q) = \exp(-4\pi^2 q^2 D \Delta)$  を用いて筋線維に含まれる水の拡散係数の推計値  $D$  を計算し、筋線維に対して垂直と定義した印加軸方向の測定信号を、正方形の領域に拡散物質が閉じ込められた

とき用いることができる信号減衰の理論式である Tanner の式(2) :

$$E(q) = 2\{1 - \cos(2\pi qa)\} / (2\pi qa)^2 + 4(2\pi qa)^2 \sum_{n=1}^{\infty} \exp(-n^2 \pi^2 D \Delta / a^2) \times \{1 - (-1)^n \cos(2\pi qa)\} / \{(2\pi qa)^2 - (n\pi)^2\}^2$$

に当てはめ、筋線維径を推定した。

b. 拡散テンソルによる筋線維径の推計 : 拡散テンソルを構成する 6 つの要素は、6 方向の q gradient 印加軸方向の信号測定結果から求めた。拡散テンソルの固有方程式の解である固有値と、固有値に対応する固有ベクトルを用いて、「筋線維の走行は拡散テンソルの最大固有値に対応し、固有ベクトルの方向に一致する」と仮定した。一般に q gradient は筋線維に斜めに加えらるるため、式(1)(2)を基に信号減衰の式を拡張した式(3) :  $S(q) = A \exp\{-4\pi^2 (q \cdot \epsilon_1)^2 (\Delta - \delta/3) D\} \times E_T(q \cdot \epsilon_2, a, D, \Delta) \times E_T(q \cdot \epsilon_3, a, D, \Delta)$  が得られる。(3)に(2)を当てはめて信号の測定結果に最も良く合致するように筋線維の横断面を正方形と仮定したときの 1 辺の長さ a を求めた。

c. 腓腹筋標本の組織学的検討 : MRI 撮像後、ラットの左腓腹筋を採取し HE 染色・SERCA1 抗体組織標本を作製した。HE 染色標本で、画像解析ソフトを用いた筋線維径の測定を行った。

## ② 拡散テンソルの拡散異方性指標の測定

固有値を利用し、拡散テンソルにおける楕円体長軸方向の見かけの拡散係数を意味する固有値  $\lambda_1$ 、異方性を排除した拡散を比較する平均拡散能(MD)、異方性の強さを表す fractional anisotropy (FA) を求めた。

## ③ <sup>1</sup>H-MR spectroscopy による腓腹筋の生化学的評価

a. 水と creatine の T1, T2 緩和時間の変化 : T1, T2 緩和時間を求めるために、繰り返し時間 (TR) とエコー時間 (TE) のパラメータを次のように変えて水と creatine の信号を測定した。

水の T1 測定の TR=0.5, 1.0, 1.5, 2.0s, TE=15 ms, 水の T2 測定時の TR=8.0 sec, TE=15, 30, 45, 60 ms, creatine の T1 測定時の TR=1.0, 1.7, 3.0 sec, TE=25 ms, creatine の T2 測定時の TR=1.7 sec, TE=50, 75, 100, 125ms

creatine の測定時は水のスペクトルを抑制し、1800 回加算した。TR, TE を変化して得られた水と creatine のスペクトルのデータを次式(4)に当てはめ、水と creatine の T1, T2 緩和時間を求めた。A: 信号のスペクトルの高さを決定する定数、 $\beta$ : 信号のスペクトルの幅を決定する定数である。式(4) :  $\xi(F, TE, TR) = A \times \exp\left\{-\beta(f - f_0)^2\right\} \times \exp(-TE/T2) \times \left\{1 - \exp(-TR/T1)\right\}$

b. Bottomley の式を用いた creatine 濃度の定量 : 水と creatine の T1, T2 緩和時間の測定結果と腓腹筋の水分含有量を Bottomley(1997)が提案した次式(5)に当てはめて計算した。

$$CR(\text{mol/kg}) = \frac{2 \times A_{CR} / \sqrt{\beta_{CR}} \times [w]}{3 \times A_W / \sqrt{\beta_W}} \times \frac{\{1 - \exp(-TR/T1_w)\} \exp(-TE/T2_w)}{\{1 - \exp(-TR/T1_{CR})\} \exp(-TE/T2_{CR})} \quad (5)$$

$A_{CR} / \sqrt{\beta_{CR}}$  : creatine の信号強度、 $A_W / \sqrt{\beta_W}$  : 水の信号強度、 $T1_{CR}$  : creatine の T1 緩和時間、 $T2_{CR}$  : creatine の T2 緩和時間、 $T1_w$  : 水の T1 緩和時間、 $T2_w$  : 水の T2 緩和時間、 $W$  : 腓腹筋の水分含有量である。

#### [実験結果]

##### ①PGSE 法による筋線維径の推計

1. 印加軸 2 方向の信号測定結果を用いた筋線維径の推計値は、2 群間で筋線維径の有意差は認められなかった。
2. 拡散テンソルを用いた筋線維径の推計値は、2 群間の処置後 8 週で有意差を認めた (\*:p<0.05)。
3. 処置群の筋線維断面積と筋線維径は有意に縮小していた。萎縮筋は Type II 線維変化を認めた。

##### ②拡散テンソルを用いた異方性指標の算出

固有値  $\lambda_1$ 、MD は 2 群間・各群内とも経過期間により有意差が見られなかった。FA は処置後 8 週で 2 群間に有意差を認めた (\*:p<0.05)

##### ③<sup>1</sup>H-MRS による creatine 濃度の推計

1. 水と creatine の T1, T2 緩和時間は、2 群間で処置後 2 週の水と creatine の T1 緩和時間、処置後 4 週の水の T2 緩和時間で有意差を認めた (\*:p<0.05)。
2. 腓腹筋の水分含有量は 2 群間で有意差があり、処置群における水分量の著明な減少が確認された (\*\*:p<0.01)。
3. creatine 濃度の推計値は処置後 8 週で 2 群間に優位傾向を認めた (†:p<0.1)。

#### [考察]

PGSE 法で得られた筋線維径推計値は組織標本から求めた実測値と差があり、本研究で用いた条件や式による正確な筋線維径の推計はできなかった。本手法の仮定条件等をさらに検討することによって筋の構造変化を捉えられる可能性もありうるものと考えた。また、<sup>1</sup>H-MRS を用いた研究では、単位体積 (voxel) 当りの水と creatine の T1, T2 緩和時間や腓腹筋に含まれる生化学物質 creatine の濃度を推計する手法を提案し、<sup>1</sup>H-MRS により筋の生化学的変化を捉えられる可能性を示した。本研究結果は、MRI が筋の形態・機能の定量的評価に応用可能であることを示した。